



Scientia Agropecuaria

Website: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop>

Facultad de Ciencias
Agropecuarias

Universidad Nacional de
Trujillo

Determinación de la actividad insecticida de la saponina de la quinua (*Chenopodium quinoa*) en larvas de *Drosophila melanogaster*

Determination of the insecticide activity of the saponine of the quinua (*Chenopodium quinoa*) in larvas of *Drosophila melanogaster*

H. Bonilla^{1,2}; Y. Carbajal^{1,2}; M. Gonzales²; V. Vásquez²; A. López^{1,2,*} 

¹ Grupo de Investigación en Recursos Genéticos (RecGen), Laboratorio de Genética, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

² Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

Received July 20, 2018. Accepted February 8, 2019.

Resumen

Chenopodium quinoa es un fitorecurso andino con gran variedad genética y que posee alto valor agronómico-nutritivo, aunque el contenido de saponina otorga un sabor amargo que limita su comercialización; sin embargo, la saponina puede ser aprovechada en otros usos. El presente trabajo evalúa el aprovechamiento del agua de lavado de quinua como fuente de saponina y su empleo como insecticida. La cuantificación de saponina se realizó empleando el método afrosimétrico. La saponina extraída no hidrolizada se identificó mediante cromatografía de capa fina. Para evaluar la natalidad de individuos de *D. melanogaster*, se les expuso a distintas concentraciones de saponina: 0,1%, 0,4%, 0,7% y 0,9%; así como controles positivo (bórax) y negativo. La electroforesis de proteínas a partir de glándulas salivales e intestino de larvas en tercer estadio de *D. melanogaster* evidencia notorias diferencias en la expresión de proteínas entre el (T) 0,4% y el resto de tratamientos. En conclusión, la saponina puede ser considerada como un agente que dificulta la supervivencia larval de *D. melanogaster* debido a que la respuesta frente a éste variará conforme la concentración utilizada. Es recomendable utilizar concentraciones superiores a 0,9% para que la mortalidad sea mayor a 40% de individuos.

Palabras clave: quinua; lavado; saponina; insecticida; *D. melanogaster*.

Abstract

Chenopodium quinoa is an Andean phytoresource with great genetic variety and that has high agronomic-nutritive value, although the content of saponin gives a bitter taste that limits its commercialization; however, saponin can be used in other uses. The present study reports the water used to wash quinoa as a source of saponin and its use as an insecticide. The quantification of saponin was performed using the afrosimetric method. The non-hydrolyzed extracted saponin was identified by thin layer chromatography. To evaluate the birth rate of *D. melanogaster* individuals, they were exposed to different concentrations of saponin: 0.1%, 0.4%, 0.7% and 0.9%; as well as positive (borax) and negative controls. The electrophoresis of proteins from the salivary glands and intestine of larvae in the third stage of *D. melanogaster* shows evident differences in protein expression between (T) 0.4% and the rest of the treatments. In conclusion, saponin can be considered as an agent that hinders the larval survival of *D. melanogaster* because the response to it will vary according to the concentration used. It is advisable to use concentrations higher than 0.9% so that mortality is greater than 40% of individuals.

Keywords: quinoa; washed; saponin; insecticide; *D. melanogaster*.

How to cite this article:

Bonilla, H.; Carbajal, Y.; Gonzales, M.; López, A. 2019. Determinación de la actividad insecticida de la saponina de la quinua (*Chenopodium quinoa*) en larvas de *Drosophila melanogaster*. Scientia Agropecuaria 10(1): 39-45.

* Corresponding author

E-mail: alopez@unmsm.edu.pe (A. López).

1. Introducción

Chenopodium quinoa (quinua) es un cultivo andino que fue domesticado y sembrado durante miles de años en zonas que van desde el nivel del mar (0 a 500 m.s.n.m.) hasta el Altiplano (3500 a 4000 m.s.n.m.); dando lugar al surgimiento de diversos ecotipos de quinuas, de los cuales deben ser elegidas las variedades a sembrar, para lograr una buena productividad y calidad de granos (FAO, 2016). Presenta una gran variabilidad genética y gran calidad nutritiva siendo muy valorada para la seguridad alimentaria, por lo que el interés en su producción y exportación ha aumentado en los últimos años (Ku, 2017). Sin embargo, todos los cultivos de quinua contienen sustancias glucosídicas que interfieren la utilización biológica de los nutrientes, denominadas saponinas y se encuentran en el tegumento que rodea el epispermo, debido a ello los granos que no han sido lavados son amargos (Cortes, 2007). Este sabor amargo limita el consumo y comercialización de la quinua.

Las saponinas son consideradas como un factor antinutricional de las semillas de quinua, que están presentes fundamentalmente en la cáscara y son las responsables del sabor amargo; su presencia permite distinguir las variedades de quinua como dulces (< 0,11%) o amargas (> 0,11%) (Gómez-Caravaca et al., 2014). Tapia et al. (1979) mencionan que el contenido de estos metabolitos varía según los ecotipos. Las saponinas son metabolitos secundarios que constituyen una gran familia de compuestos estructuralmente constituidos por un anillo terpenoide o esteroidal, conocidos como aglicona o sapogenina, sustituidos por oligosacáridos a través de enlaces glucosídicos que les confieren un carácter anfifílico (Heng, 2006). Bojanic (2011) afirma que el nivel máximo aceptable de saponina en la quinua para consumo humano oscila entre 0,06 y 0,12 por ciento. Sin embargo, estos metabolitos tienen propiedades que pueden ser aprovechadas, ya que pueden ejercer una amplia actividad biológica y farmacológica, destacándose su efecto piscida, insecticida, anti-protozoos, antiinflamatorio, leishmanicida, antitrichomonas, antiagregante plaquetario, broncolítico, hipo-colesterolémico, así como su actividad citotóxica frente a varias neoplasias (Mena-Valdés et al., 2015); por lo que están adquiriendo en los últimos años mucha importancia en la industria farmacéutica y cosmética (Guzmán et al., 2015). Es por ello, debido al creciente interés por sus propiedades farmacológicas y al auge que está teniendo el consumo de alimentos

ancestrales, que la quinua se está posicionando como una fuente de saponinas que aún falta explorar con mayor profundidad (Ahumada et al., 2016).

Ruiz et al. (2017) refieren que las semillas de quinua pueden representar una fuente sostenible para obtener saponinas en grandes cantidades debido al aumento de la producción y expansión mundial del cultivo. El programa EuroEcoTrade señala que es importante identificar los nichos de mercado y evaluar el uso potencial y comercialización de la saponina de la quinua como medida a favor de la conservación del ambiente y el aprovechamiento sostenible de la biodiversidad (EUROECOTRADE, 2016). También hay que considerar que existen diferentes variedades de quinua, las que presentan diferentes niveles de saponina (Ahumada et al., 2016), por lo que es importante relacionar la cantidad de saponina con la región de procedencia.

Una medida amigable con el ambiente para controlar plagas de insectos, es el uso de extractos de plantas (Santos et al., 2009). Así, existen reportes sobre la acción de extractos de quinua sobre algunas plagas. Zegarra (2011) evaluó la actividad acaricida de variedades de quinuas amargas, reportando que la variedad Markjo presentó una bioactividad cercana al acaricida comercial. Alegre et al. (2017) analizaron la toxicidad de extractos acuosos, etanólicos y hexánicos de muña, guanabana, tarwi y quinua sobre *T. urticae* ("arañita roja") y *C. externa* ("león de áfidos"), reportando que los extractos de muña y quinua serían recomendables para un control integrado de *T. urticae*. En este marco, el agua de lavado puede ser aprovechada como una fuente importante de saponinas y/o de otros metabolitos que tengan posible acción insecticida, constituyéndose como una alternativa de bajo costo y que no genera problemas al ambiente. Existen unos pocos primeros estudios al respecto. Nuñez (2017), reporta que el agua del primer lavado de quinua se constituye en una alternativa eficaz para controlar nemátodos en papa. Garófalo (2018), reporta que se requiere una concentración del 50% de saponina presente en el lavado de la quinua para controlar la oruga del maíz.

Drosophila melanogaster es utilizada como modelo biológico para comprobar el posible efecto insecticida de sustancias naturales que provienen de diversas plantas, y comprobar la eficacia de los mismos durante su ciclo de vida (Pujol-Lereis et al., 2011; Carmona-Hernandez et al., 2014).

Debido al uso intensivo, se ha desarrollado resistencia a diversos grupos de insecticidas organofosforados, carbamatos y piretroides (WHO, 2012; Sternberg *et al.*, 2018). Por ello, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO) recomiendan la inclusión de insecticidas de cuarta generación, es decir, reguladores de crecimiento (análogos de hormona juvenil) (Dhadialla *et al.*, 1998) para el control de insectos plaga y vectores. Las hormonas juveniles poseen una estructura terpenoide (Subramanian *et al.*, 2016) similar a las saponinas de quinua, por lo tanto, se han indicado a estos compuestos como potenciales insecticidas reguladores de crecimiento (Chaieb, 2010). Aún así, la información científica que compruebe el efecto insecticida del agua de lavado de la quinua es escasa, a pesar que en nuestro país hay variedades de quinua que pueden diferir en concentración de saponinas, lo cual debería ser identificado y aprovechado. De esta manera, nuestro trabajo se enfoca en el aprovechamiento del agua de lavado de quinua, como fuente de saponina y su posterior empleo como insecticida natural, representando una alternativa económica, ecológica y de efectos a corto plazo para el control de insectos, utilizando como modelo *Drosophila melanogaster*. Además, se analiza la expresión de proteínas en larvas de *D. melanogaster* como posible efecto de la saponina de la quinua en su desarrollo larval.

2. Materiales y métodos

Material Biológico

El material vegetal consistió de semillas de quinua: una muestra proveniente del Programa de Cereales de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) de Lima, y otra muestra procedente de la provincia de Recuay, Ancash (3,394 msnm).

Los ejemplares de *D. melanogaster* provienen del cepario del Laboratorio de Citogenética (Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, UNMSM), y corresponden a la cepa silvestre de la línea Oregón. Se mantuvieron en condiciones de laboratorio (a temperatura aproximada de 25 °C) en frascos de vidrio estériles de 250 ml de capacidad, tapados con algodón hidrófobo envuelto con gasa para permitir el intercambio gaseoso; estos frascos contenían medio de cultivo tradicional en base a agar-agar, azúcar y levadura, hasta el momento de transferirlos a medios con saponina. Se colocó un total de 5 parentales: 3 machos y 2 hembras.

Extracción y cuantificación de saponina

Se emplearon las dos variedades diferentes de quinua: Blanca de Hualhuas (Programa de Cereales - UNALM), y la variedad proveniente de la provincia de Recuay, Ancash. En ellas se evaluó el contenido de saponina, empleando el método afrosimétrico. Este método está basado en la propiedad de las saponinas de disminuir la tensión superficial del agua, formándose una espuma estable, cuya altura está relacionada con el contenido de saponinas en los granos (Subieta *et al.*, 2011). Los glucósidos vegetales son compuestos que se producen en el metabolismo secundario de la planta, se caracterizan por ser solubles en agua y disminuir la tensión superficial. Por esta razón, se eligió el método afrosimétrico para la medición de espuma de quinua, la cual al agitarse en agua forma abundante espuma relativamente estable. Además, Guzmán *et al.* (2013) mencionan que este método es el que más se utiliza para la determinación de concentración de saponinas de quinua, dando óptimos resultados.

Se procedió a lavar las semillas de quinua, para obtener el agua de lavado de quinua y posteriormente filtrarla. El protocolo de extracción se realizó acorde con lo reportado por Bonifaz (2010). El siguiente paso fue concentrar la saponina, para ello se tomaron 1000 ml de agua de lavado de quinua y se concentró hasta un volumen de 250 ml por evaporación. Luego se eliminaron los contaminantes orgánicos agregando hexano, para finalmente obtener la saponina por precipitación agregando metanol.

Identificación de saponina

Luego de extraer la saponina se procedió a realizar el análisis de separación mediante cromatografía de capa fina. Como fase estacionaria se empleó sílica gel, como eluyente acetato de etilo y como revelador, vainilina. El contraste se realizó con una solución patrón de saponina pura ©Merck.

Tratamiento con saponina a *Drosophila melanogaster*

Se realizaron 4 tratamientos de 5 repeticiones cada uno en base a distintas concentraciones de saponina en metanol las cuales fueron agregadas al medio tradicional durante su preparación; además de 2 controles: positivo y negativo. Las concentraciones empleadas como tratamientos fueron 0,1%, 0,4%, 0,7% y 0,9%. Como control positivo se empleó bórax y como control negativo, se empleó

el medio tradicional agregando metanol (0,9% v/v) en su preparación. En cada uno de los frascos se colocó parentales: 3 machos y 2 hembras.

Electroforesis de proteínas a partir de larvas de *D. melanogaster*

Se tomaron como muestras tejido de intestino y glándulas salivales obtenidas a partir de larvas de *D. melanogaster* en tercer estadio. Se disectaron 10 larvas por tratamiento previamente lavadas con hipoclorito de sodio (lejía) al 5%, de cada larva se extrajo ambas muestras de tejido, para ser transferidas inmediatamente a eppendorfs conteniendo solución salina amortiguadora con fosfatos (PBS), pH 7,4 a 4 °C.

Se determinó el patrón de migración electroforética de las proteínas de ambos tejidos usando un sistema continuo desnaturizante (SDS PAGE) empleando un gel concentrador al 4% (pH 6,8) y un gel de corrida al 15% (pH 8,8) en una cámara de electroforesis modelo PROTEAN II (BIO RAD).

La extracción de proteínas se realizó empleando el buffer SDS 2X (100mM Tris-HCl pH 6,8, 4% SDS, 0,2% azul de bromofenol, 20% glicerol, 200 mM β -mercaptoethanol). Cada muestra fue colocada en agua a ebullición por un espacio de cinco minutos antes de cargar en la cámara de electroforesis. En cada pozo del gel se colocaron 20 μ L de la muestra tratada. Posteriormente se aplicó una corriente eléctrica de 10 mA para el gel espaciador y de 30 mA para el gel separador, dada por una fuente de poder BIO RAD modelo 1000/500 durante 1 hora.

Finalizada la corrida electroforética, se colocó el gel en una solución preservadora de glicerol al 5% durante 1 hora. Luego se tiñó con azul de Coomassie 0,2% durante 40 minutos y se decoloró con una solución de metanol 30%, ácido acético 10% y agua destilada 60% por un periodo de 30 minutos hasta que las bandas fueron visibles. Los geles fueron fotografiados y conservados en la solución preservadora.

3. Resultados y discusión

Extracción y cuantificación de saponina

Los valores de longitud de espuma se muestran en la [Tabla 1](#) tanto para la variedad Hualhuas como para la variedad de Recuay, evidenciándose una mayor cantidad de saponina en esta última.

El resultado reporta una mayor cantidad de saponina para la variedad proveniente de Recuay con respecto a la de Hualhuas, lo que estaría en relación a lo mencionado por

Ahumada et al. (2016) quienes refieren que el contenido de saponinas está en función tanto de la variedad como de su origen; Gonzáles y Prado (2013), que mencionan que las saponinas se encuentran en diferentes concentraciones según la variedad; De Santis et al. (2016) refieren que las condiciones climáticas inciden en el contenido de saponina, así como García-Parra et al. (2018) que refieren que las características edafoclimáticas de cada lugar y las características genéticas de cada variedad son determinantes en el contenido de saponinas. Debido a que en nuestro estudio se obtuvo mayor contenido de saponinas en la variedad Recuay, la extracción de saponina en adelante se realiza a partir de esta variedad.

Tabla1

Longitud de la espuma obtenida en las variedades Hualhuas y Recuay

	Var. Hualhuas	Var. Recuay
1er shake	0,5 cm	6,9 cm
2do shake	0,7 cm	8,8 cm
3er shake	0,5 cm	7,5 cm

De acuerdo al método de extracción de saponina no hidrolizada, las dos fases formadas por la diferencia de polaridades entre etanol – hexano, nos permite asegurar que los metabolitos con los que estamos trabajando corresponden a moléculas de saponina, debido a que según reportes de otros autores (Bagnarello, 2009; Bonifaz, 2010; Marin-Canchala et al., 2013) los triterpenos y esteroides se encuentran en la fracción de hexano; y los compuestos polifenólicos (flavonoides y taninos), y saponinas en la fracción de metanol.

Identificación de saponina

El ensayo de cromatografía permitió corroborar la presencia de saponina en la solución extraída del agua de quinua. El contraste se realizó con una solución patrón de saponina pura ©Merck. La saponina extraída se encuentra a una concentración menor del 100%. Los valores de Rf obtenidos fueron: 0,05 para la saponina sintética y 0,06 para la saponina natural.

Los datos generados a partir de la metodología aplicada para la extracción, revelan que el porcentaje de saponina presente en la quinua de Recuay fue 0,28%, el cual está dentro del rango de saponina reportado para quinua amarga, según Ahumada et al. (2016).

Tratamiento con saponina a *Drosophila melanogaster*

Los datos de natalidad en *D. melanogaster* (Figura 1) muestran una distribución disímil

con los parámetros esperados, debido a un incremento del número de individuos nacidos vivos a la concentración 0,4% de saponina. Para los tratamientos con 0,1, 0,7 y 0,9% de saponina en el medio de cultivo tradicional se comprueba el efecto insecticida de la saponina sobre *D. melanogaster*, cumpliendo el efecto esperado. Sin embargo, la dosis de 0,4% no tuvo el mismo efecto. Los resultados obtenidos para esta concentración son similares a los obtenidos en el control negativo.

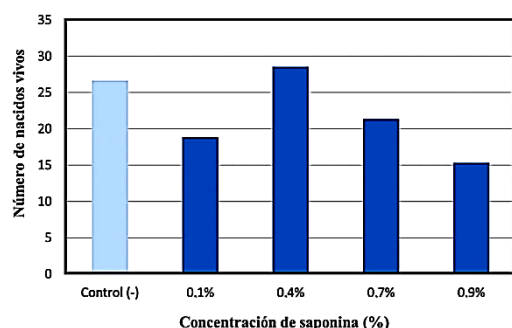


Figura 1. Cantidad de individuos nacidos vivos de *Drosophila melanogaster* vs la concentración de saponina utilizada.

Lemus-Soriano et al. (2017) mencionan que la menor cantidad de larvas eclosionadas puede deberse a que los metabolitos, y considerando también su concentración, influyen impidiendo la oviposición. Zapata et al. (2016) mencionan que muchos compuestos químicos producidos por las plantas actúan interrumpiendo o alterando el ciclo biológico de los insectos, y que aquellos de naturaleza triterpenoide potencian la acción antialimentaria e inhiben la muda de los insectos. Asimismo, refieren que muchos de estos metabolitos tienen efecto subletal, es decir no causan la muerte del insecto directamente, pero si inciden en su crecimiento, desarrollo y reproducción. Las saponinas de quinua son un grupo de más 30 compuestos triterpénicos (Ahumada et al., 2016) de estructura similar a la hormona juvenil, por ello podrían ejercer un efecto larvicida al igual que los insecticidas análogos de la hormona juvenil como piriproxifeno o metopreno utilizados actualmente para el control de insectos en agronomía y salud pública. Godoy-Herrera (1994) menciona que las larvas de *Drosophila* pueden adaptarse a determinado ambiente del medio de cultivo, según el período larval por el que atraviesa o las características nutritivas del medio. En nuestro caso, se emplearon concentraciones de saponina, una mayor que otra, esperando que el efecto insecticida se

manifieste de igual manera, es decir a mayor concentración, menor tasa de nacidos vivos de la F₁ que lleguen a la etapa adulta; lo cual no corresponde con lo reportado para la concentración de 0,4%. Ello podría deberse a que dicha concentración tendría un efecto subletal, por lo que no hay mortalidad larval, y que, las larvas de *Drosophila* han respondido favorablemente a dicha concentración, aunque ello no asegure que no presente alguna alteración funcional en su etapa adulta. También podría deberse a que dicha concentración presente la cantidad adecuada para activar rutas alternas (de emergencia) en los programas de desarrollo y crecimiento larval, debido a que en *Drosophila* hay respuesta orgánica de tamaño y desarrollo a los niveles nutricionales del medio, ya que estos influyen en las conexiones entre los programas de desarrollo y los reguladores de crecimiento (Montes, 2016).

En el caso de la concentración de 0,1% no se habrían activado dichas rutas alternas, por lo que se habría desencadenado la mortalidad larval. En las concentraciones de 0,7% y 0,9% los efectos también son notoriamente larvicidas. La concentración 0,9% de saponina en el medio representa la dosis de letalidad al 40%.

Electroforesis de proteínas a partir de larvas de *D. melanogaster*

El análisis electroforético preliminar de la expresión de proteínas mostraría diferencias entre el material proveniente de intestino y de glándulas salivales (Figura 2). También se observó expresión diferencial de proteínas entre los tratamientos, atribuible a la activación de singulares mecanismos de respuesta ante la exposición a saponina.

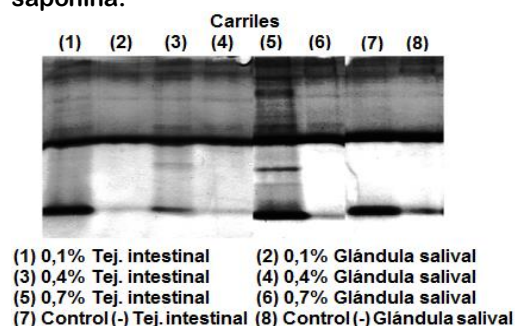


Figura 2. Electroforesis en gel de poliacrilamida de muestras de tejido intestinal y glándula salival de *Drosophila melanogaster*.

Como una posible explicación ante la respuesta del organismo, en este caso larvas de 3er estadio de *D. melanogaster*, la electroforesis de proteínas de glándulas

salivales e intestino nos revelan en base al patrón de bandas, que aparentemente cada concentración de saponina activa una vía de resistencia diferente hacia esta; dado que hemos encontrado bandas únicas para cada concentración, que difieren de los controles negativos, lo que indicaría una expresión diferencial de proteínas en cada uno de los tratamientos basándonos principalmente en los carriles que contienen muestra de intestino donde se observan mayor número de bandas y más nítidas.

En los controles negativos (carriles 7 y 8) hay muy ligeras diferencias en ambos tejidos, que podrían deberse a una expresión diferencial propia del tejido. Se recomienda que, en un futuro análisis, estos resultados preliminares incluyan otros tejidos que corroboren la expresión diferencial de proteínas.

4. Conclusiones

En el presente trabajo se reporta una diferencia en la cantidad de saponina entre las dos variedades analizadas, lo que apoya la correlación entre presencia de saponina según el lugar de procedencia de la semilla de quinua. Asimismo, se evidencia la relación entre el sabor amargo del grano de quinua de la variedad de Recuay con el alto contenido de saponina, según el método afrosimétrico.

Se concluye que el grupo de saponinas proveniente de la muestra de quinua de la provincia de Recuay, puede ser considerada como un agente que dificulta la supervivencia de las larvas de *D. melanogaster*, siendo recomendable utilizar en concentraciones superiores a 0,9% para que la efectividad de mortalidad sea superior al 40% de individuos por nacer. Ello puede ser considerado para utilizar dicha concentración de saponina como agente larvicida frente a otros insectos que puedan ser considerados plaga.

Agradecimientos

Al Vicerrectorado de Investigación de la UNMSM por la subvención al proyecto 121003GE, del cual derivó la presente publicación. Al PhD Álvaro Marcelo por sus sugerencias y apoyo en la identificación de la saponina.

ORCID

A. Lopez  <https://orcid.org/0000-0001-6070-5836>

Referencias bibliográficas

Ahumada, A.; Ortega, A.; Chito, D.; Benitez, R. 2016. Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un sub producto con alto potencial biológico. Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm. 45(3) 438-469.

Alegre, A.; Iannaccone, J.; Carhuapoma, M. 2017. Toxicidad del extracto acuoso, etanólico y hexánico

de *Annona muricata*, *Minthostachys mollis*, *Lupinus mutabilis* y *Chenopodium quinoa* sobre *Tetranychus urticae* y *Chrysoperla externa*. Chilean J. Agric. Anim. Sci. 33(3): 273-284.

- Bagnarello, G.; Hije, L.; Vagnarello V.; Cartin, V.; Calvo, M. 2009. Actividad fagodisuasiva de las plantas *Thitonia diversifolia* y *Montanoa hibiscifolia* (Asteraceae) sobre adultos del insecto plaga *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleydoridae). Revista de Biología tropical 57(4): 1201-1215.
- Bojanic, A. 2011. La Quinua: Cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial. Oficina Regional para América Latina y el Caribe. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (en línea). Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/templates/aiq2013/res/es/cultivo_quinoa_es.pdf.
- Bonifaz, L.E. 2010. Determinación de la actividad Insecticida de la Saponina de Quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) hidrolizada y no hidrolizada sobre *Drosophila melanogaster*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador.
- Carmona-Hernandez, O.; Fernandez, M.; Palmeros, B.; Lozada, J. 2014. Actividad insecticida de extractos etanólicos foliares de nueve piperaceas (*Piper* spp.) en *Drosophila melanogaster*. Rev. Inte. Contam. Ambie. 30: 67-73.
- Cortes, A.; Rubiano, A. 2007. Caracterización de tres ecotipos de quinua "*Chenopodium quinoa* Willd." mediante técnicas agroecológicas, en dos zonas agroclimatológicamente diferentes del departamento de Cundinamarca. Revista Inventum 2(7): 89-101.
- Chaieb, I. 2010. Saponins as insecticides: a review. Tunisian Journal of Plant Protection 5: 39-50.
- De Santis, G.; Maddaluno, C.; D'Ambrosio T.; Rascio, A.; Rinaldi, M.; Troisi, J. 2016. Characterisation of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) accessions for the saponin content in Mediterranean environment. Italian Journal of Agronomy 11(4) 277-281.
- Dhadialla, T.S.; Carlson, G.R.; Le D.P. 1998. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. Annu Rev Entomol. 43: 545-69.
- EUROECOTRADE. 2016. Identificación de atributos de la saponina de quinua para el mercado europeo de ingredientes naturales. Programa de apoyo presupuestario a la política de promoción de las exportaciones de productos ecológicos. Lima, 48 pp.
- FAO – Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2016. Guía de cultivo de quinua. 2ª edición. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. 130 pp.
- García-Parra, M.; Plazas-Leguizamón, N.; Carvajal, D.; Ferreira, S.; Parra, J. 2018. Descripción de las saponinas de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) en relación con el suelo y el clima: una revisión. Informador Técnico 82 (2): 241-249.
- Garófalo, K. 2018. Efecto del plaguicida orgánico a base de saponina del lavado de quinua (*Chenopodium quinoa*) sobre el crecimiento en orugas del maíz (*Zea mays*). Tesis de título. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Chimborazo. Ecuador.
- Godoy-Herrera, R. 1994. Desarrollo y genética de patrones de movimiento en larvas del género *Drosophila*. Rev. Chilena Ent. 21: 171-174.
- Gómez-Caravaca, A.M.; Iafelice, G.; Verardo, V.; Marconi, E.; Caboni, M.F. 2014. Influence of pearling process on phenolic and saponin content in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Food Chemistry 157: 174-178.
- González, J.; Prado, F. 2013. Quinoa: aspectos biológicos, propiedades nutricionales y otras consideraciones para su aprovechamiento. Ciencia y tecnología de los cultivos industriales 3(5): 5-15.
- Guzmán, B.; Cruz, D.; Alvarado, J.; Mollinedo, P. 2013. Cuantificación de saponinas en muestras de

- Cañihua *Chenopodium pallidicaule* AELLEN. Revista Boliviana de Química 30(2): 131-136.
- Guzmán, B.; Tenorio, R.; Cruz, D.; Espinal, C.; Alvarado, J.; Mollinedo, P. 2015. Saponins from *Chenopodium quinoa* Willd and *Chenopodium pallidicaule* Aellen as biocontrollers of phytopathogen fungi and hemolysis agents. Revista Boliviana de química 32(1): 8-14.
- Heng, L.; Vincken, J.P.; Hoppe, K.; Van Koningsveld, G.A.; Decroos, K.; Gruppen, H.; Van Boekel, M.; Voragen, A.G. 2006. Stability of pea DDMP saponin and the mechanism of its decomposition, Food Chemistry 99: 326-334.
- Ku, P. 2017. Perú como primer exportador de quinua a nivel mundial. Quipukamayoc 25(47): 75 - 83.
- Lemus-Soriano, B.; Pérez-Aguilar, D.; Romero García A. 2017. Evaluación de insecticidas vegetales sobre la mosca del vinagre de alas manchadas *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera: Drosophilidae). Entomología mexicana 4: 238- 242.
- Marín-Canchala, D.; Barango-Vanegas, J.; Galeano-García, P. 2013. Caracterización química, evaluación de la actividad antioxidante y antibacteriana del extracto crudo de *Pistacanthus cucullaris*. Rev. Momentos de Ciencia 10(1): 2-10.
- Mena-Valdés, L.; Tamargo, B.; Salas, E.; Plaza, L.; Blanco, Y.; Otero, A.; Sierra, G. 2015. Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de *Sapindus saponaria* L. (jaboncillo). Revista Cubana de Plantas Medicinales 20(1): 106-116.
- Montes, A.; 2016. Control del crecimiento en los discos imaginales de *Drosophila melanogaster*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. España.
- Núñez, V. 2017. El plaguicida orgánico de los residuos de lavado de la quinua (*Chenopodium quinoa*) y los nemátodos en cultivo en papas (*Solanum tuberosum*) en el cantón Quero. Tesis para el grado de Maestría en Gestión de la Producción Agroindustrial. Facultad de Ciencias e Ingeniería de los Alimentos. Universidad Técnica de Ambato. Ecuador.
- Pujol-Lereis, L.; Bochichhio, P.; Rabossi, A. 2011. Xantenos y porfirinas, moléculas fotoactivables empleadas en el control de insectos plaga. Rev. Química Viva 10(3): 139-153.
- Ruiz, K.; Khakimov, B.; Engelsens, S.; Bak, S.; Boindi, S.; Jacobsen, S. 2017. Quinoa seed coats as an expanding and sustainable source of bioactive compounds: an investigation of genotypic diversity in saponin profiles. Industrial Crops and Products 104: 156-163.
- Santos, O.; Varón, E.; Salamanca, J. 2009. Prueba de extractos vegetales para el control de *Dasiops* spp., en granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.) en el Huila, Colombia. Corpoica Cienc. Tecnol. Agropecu. 10(2): 141-151.
- Sternberg, E.; Thomas, M. 2018 Insights from agriculture for the management of insecticide resistance in disease vectors. Evol Appl. 11(4): 404-414.
- Subieta, C.; Quioga, C.; Escalera, R.; Arteaga L. 2011. Recuperación de residuos sólidos con alta concentración de saponinas del proceso de beneficiado en seco de granos de quinua amarga. Investigación & Desarrollo 11(1): 96-112.
- Subramanian, S.; Shankarganesh, K. 2016. Ecofriendly Pest Management for Food Security. Chapter 20 - Insect Hormones (as Pesticides): 613-650.
- Tapia, M.; Gandarillas, H.; Alandia, S.; Cardozo, A.; Mujica, A. 1979. La quinua y la Kañiwa. Cultivos andinos. 1ª edición. CIID. Bogotá, Colombia. 228 pp.
- WHO. 2012. Global plan for insecticide resistance management in malaria vectors (GPIRM). World Health Organization. 132 pp.
- Zapata, N.; Ceballos, R.; Céspedes, C.; Alarcón, J.; Leyton, A. 2016. Actividad insecticida y reguladora del crecimiento de extractos de *Blechnum chilense* (Blechnaceae) y *Condalia microphylla* Cav. (Rhamaceae) sobre larvas de *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). Bol. Latinoam Caribe Plant Med Aromat 15(2): 77-87.
- Zegarra, G. 2011. Actividad deterrente y acaricida de principios activos de quinuas amargas, aceites esenciales y tarwi. Tesis de Licenciatura en Química. Facultad de Ciencias e Ingeniería. Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima.